

Экспериментальные исследования

УДК 617.713–002.9–089.843.84–036–092.9

Влияние жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека при ее фиксации к роговице шовным материалом на особенности течения моделированного бактериального кератита

Е. В. Середя¹, Г. И. Дрожжина¹, Т. Б. Гайдамака¹, В. В. Вит¹, В. А. Шаблей², Г. С. Лобынцева²¹ ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В. П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

² Институт клеточной терапии; Киев (Украина)

E-mail: cornea@te.net.ua

Вступ. Актуальність роботи визначається недостатнім вивченням ефективності трансплантації амніотичної мембрани при бактеріальних кератитах, яка завдяки своїм властивостям може грати важливу роль у лікуванні даної патології.

Мета дослідження: вивчити в експерименті особливості протизапальної дії життєздатної криоконсервованої амніотичної мембрани людини при різних хірургічних техніках її фіксації на моделі бактеріального кератиту.

Матеріал та методи. Трансплантація життєздатної амніотичної мембрани проведена у 30 кроликів породи Шиншила (30 очей), масою 2,5–3,0 кг, на розробленій моделі бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості. Використовували техніку inlay (1 шар) з фіксацією амніона вісьмома вузловими швами нейлон 10/00 до рогівки. Повіки тварин зшивали двома П-подібними швами, залишаючи в медіальному куті щілину для огляду. Термін спостереження склав 1 місяць. Групу контролю склали 10 кроків з модельованим бактеріальним кератитом, які отримували традиційну консервативну терапію.

Результати дослідження. Через 1 місяць після трансплантації амніотичної мембрани у шести кроликів (6 очей) мембрана залишалася збереженою на поверхні рогівки і у чотирьох (4 ока) була частково лізрована. У двох випадках набряк в стромі рогівки був відсутній, у двох — був дифузним, в шести — слабо вираженим. У двох кроликів спостерігали точкову інфільтрацію. У чотирьох кроликів (4 ока) характерною була наявність васкуляризації. На гістологічних препаратах відзначалася повна епітелізація поверхні рогівки, але при цьому диференціація по шарах відзначалася тільки в центральних ділянках рогової оболонки. У ряді випадків відзначалися явища початкової васкуляризації стромы рогової оболонки, особливо в поверхневих шарах і поблизу шовного матеріалу.

Висновок. При однаковій глибині поразки рогової оболонки бактеріальним інфекційним процесом перевагу слід віддавати техніці біологічного покриття, як менш травматичному виду оперативного втручання, яке супроводжується меншою інтенсивністю запальної реакції з боку тканини рогівки.

Ключевые слова: бактериальный кератит, криоконсервированная амниотическая мембрана, эксперимент

Ключові слова: бактеріальний кератит, криоконсервована амніотическая мембрана, експеримент.

Введение. Амниотическая мембрана человека благодаря своим антибактериальным, ангиоогенным, противовоспалительным и антифибробластным свойствам заняла прочное место в реконструктивной хирургии глазной поверхности [12, 13, 17, 23]. Благодаря таким свойствам амниотическая мембрана (АМ) человека может играть важную роль в лечении инфекционного кератита.

В многочисленных зарубежных экспериментальных и клинических исследованиях доказана эффективность трансплантации амниотической

мембраны при различных воспалительных, дистрофических и дегенеративных заболеваниях роговицы [8, 9, 10, 19, 20, 22]. Однако эффективность трансплантации при бактериальных кератитах остается наименее изученной [11, 15, 18]. В настоящее время в офтальмологии применяется как нативная, так и консервированная амниотическая

мембрана. Институтом клеточной терапии (г. Киев) был разработан новый метод криоконсервации амниона человека, обеспечивающий сохранность жизнедеятельности эпителиальных и стромальных клеток АМ [5]. Сущность метода заключается в криоконсервации мембраны при -196°C под защитой 5 % диметилсульфоксида по четырехэтапной программе медленного замораживания с контролируемым кристаллообразованием. Данная технология криоконсервации предусматривает сохранность жизнедеятельности клеток амниотической мембраны после ее размораживания, что сводит потерю свойств амниона к минимуму и может способствовать повышению эффективности данной методики.

Стандартной техники трансплантации амниотической мембраны не существует. Имеется множество противоречивых публикаций по поводу правильного расположения амниона на поверхности глаза. Мембрана может быть фиксирована к глазной поверхности основной мембраной эпителия, обращенной вверх, и стромальной стороной, обращенной вниз к глазу (предпочтительная техника) или стромальной стороной амниона вверх. Стромальная сторона амниотической мембраны липкая, как стекловидное тело, а эпителиальная сторона мембраны блестящая и не липкая.

Существует несколько принципиально различных способов трансплантации амниотической мембраны: «inlay», «overlay» и «сэндвич» техника.

Техника «inlay». Амниотическую мембрану размещают непосредственно на зону поражения роговицы, не покрывая интактную её поверхность за пределами эпителиального дефекта, и фиксируют к ней отдельными швами [3, 4, 7]. В результате амнион принимает на себя роль базальной мембраны, на которую и нарастают эпителиальные клетки с окружающей поверхности роговицы. В последние годы появились различные варианты использования данной техники. Например, дополнительно круглым ножом со стороны стромально-эпителиального дефекта к периферии проводят круговое расслоение роговицы шириной 1,5–2 мм. Трансплантат размещают эпителиальной стороной вверх. С помощью шпателя края трансплантата направляют в расслоенную строму роговицы [1, 14].

Техника «overlay» подразумевает полное покрытие роговицы с захватом лимбальной зоны. При этой технике амниотическая мембрана выполняет прежде всего роль биологической контактной линзы [14].

Сэндвич-техника. Этот метод представляет собой комбинацию из двух описанных выше, и в основном используется при тяжелых поражениях глазной поверхности, например, глубоких и обширных язвах роговицы [20, 21]. Основная цель покрытия — защитить трансплантат амнионом и способствовать процессу эпителизации [16, 20].

Цель. Изучить в эксперименте особенности противовоспалительного действия жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека при различных хирургических техниках ее фиксации на модели бактериального кератита.

Материал и методы

Экспериментальное исследование проводилось на 30 глазах 30 кроликов породы шиншилла массой 2,5–3,0 кг, которых содержали при комнатной температуре на обычном лабораторном рационе. Оперативные вмешательства выполняли на базе вивария ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» в условиях асептики и антисептики. Эксперимент проводили с выполнением этических норм, предусмотренных международными принципами Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и в других научных целях» (Страсбург, 1986) и норм биомедицинской этики, одобренных первым национальным конгрессом Украины по биоэтике (2001г.), а также закона Украины № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Киев, 2006).

Моделирование бактериального кератита средней степени тяжести проводили по предложенному нами способу, который заключался в послойной трепанации роговой оболочки кролика до 2/3 толщины стромы с инфицированием роговицы путем двукратной инстилляцией в конъюнктивальную полость 1 мл бактериальной суспензии патогенного штамма *Staphylococcus aureus* (10^9 клеток/мл), полученного от больного, с последующей субконъюнктивальной инъекцией 0,1 мл дипроспана [5]. Через две недели после моделирования кератита у 30 животных (30 глаз) проводили трансплантацию амниотической мембраны. Для размораживания мембраны криобирку вынимали из сосуда Дюара с жидким азотом и погружали в водяную баню, нагретую до температуры $30-40^{\circ}\text{C}$.

Объективно на момент операции наблюдали эрозию роговицы 3–5 мм в диаметре, отек в строме роговицы и умеренно выраженную инфильтрацию. Использовали технику inlay (1 слой) с фиксацией амниона восемью узловатыми швами нейлон 10/00 к роговице. Веки животных сшивали двумя П-образными швами, оставляя в медиальном углу щель для осмотра. Срок наблюдения составил 1 месяц. Животных выводили из эксперимента на 7, 14 и 30 сутки (по 10 животных на каждый срок) путем введения в ушную вену $1,0\text{ см}^3$ воздуха, с последующим забором роговой оболочки для морфологического исследования.

Группу контроля составили 10 кроликов с моделированным бактериальным кератитом, получавших традиционную консервативную терапию. Для определения жизнеспособности криоконсервированной мембраны проводили культивирование ее клеток.

Метод культивирования клеток амниотической мембраны. Криоконсервированную АМ размораживали в водяной бане при $30-40^{\circ}\text{C}$ до появления жидкой фазы, с последующим оттаиванием при комнатной температуре. К АМ, находящейся в растворе криопротектора, медленно, по каплям добавляли раствор Хенкса в соотношении 1:10 с постоянным помешиванием. После этого АМ извлекали из раствора, содержащего ДМСО, и переносили в раствор Хенкса. Амниотическую мембрану измельчали в растворе Хенкса ножницами до фрагментов 3 x 3 мм и погружали в ростовую среду альфа-МЕМ (HyClone), содержащую 10 %

фетальной бычьей сыворотки (HyClone), 1 % раствор аминокислот RPMI (Sigma), раствор стрептомицина 50 мкг/мл и пенициллина 100 ЕД/мл (Sigma). Культивирование проводили в условиях повышенной влажности, 5 % CO₂ при 37° С.

Клиническое исследование. В течение месяца после трансплантации амниотической мембраны проводились ежедневные осмотры на предмет состоятельности швов на веках кроликов, наличия и характера конъюнктивального отделяемого, а также наличия амниотической мембраны на поверхности роговицы, просматриваемой через щель в медиальном углу глаза. На момент выведения животных из эксперимента (7,14,30 сутки), после расширения век проводили флюоресцеиновый тест для оценки степени эпителизации поверхности роговицы.

Морфологическое исследование. Энуклеированные глазные яблоки фиксировали в 10 % нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон и исследовали с использованием микроскопа Jenamed-2.

Результаты исследования

На седьмые сутки после трансплантации амниотической мембраны при раскрытии век наблюдали умеренную гиперемию конъюнктивы у четырех кроликов (4 глаза) и отсутствие отделяемого во всех случаях (10 глаз). У двух кроликов (2 глаза) мембрана была сохранна, у двух — полностью лизирована и у шести (6 глаз) — частично лизирована. Отмечали эпителизацию поверхности роговицы и наличие умеренно выраженного отека в строме роговицы в восьми случаях (8 глаз) и сильно выраженного в двух случаях (2 глаз) (рис 1).

При гистологическом исследовании роговых оболочек во всех случаях выявлялся отёк стромы. При этом отмечалось диффузное или фокальное уменьшение количества кератоцитов и их неравномерное распределение. Наиболее выраженный отёк

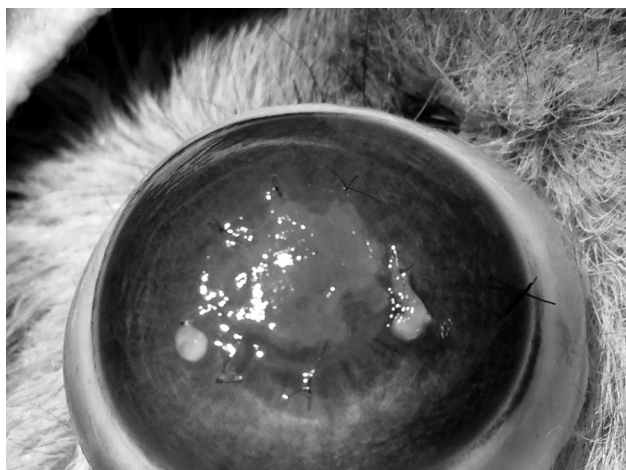


Рис. 1. Кролик № 5. Седьмые сутки после оперативного вмешательства. Конъюнктив бледно-розовая, отделяемое отсутствует. Амниотическая мембрана сохранна на поверхности роговой оболочки, адаптирована узловатыми швами. Умеренно выраженный отек в строме роговицы.

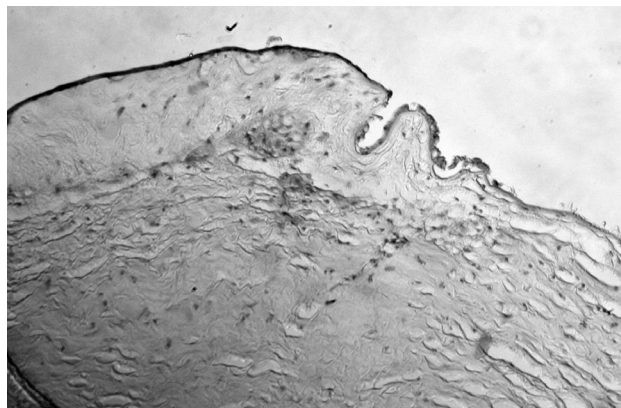


Рис. 2. Кролик № 3. Седьмые сутки после оперативного вмешательства. Отёк наружных слоёв стромы роговой оболочки. Неравномерное распределение и уменьшение количества кератоцитов. Фокальная денатурация коллагеновых пластин стромы. Поверхность роговой оболочки частично покрыта истонченной эпителиальной тканью, стоящей из 2–3 слоёв клеток. Гематоксилин-эозин. X 40.

наблюдался в поверхностных слоях стромы роговицы, что проявлялось формированием её сетчатой структуры (рис. 2). В этих местах кератоциты практически отсутствуют. В более глубоких слоях стромы отмечался фокальный мукоидный отёк коллагеновых стромальных пластин. В этот период времени выраженных воспалительных изменений в центральных участках роговицы не обнаруживается. Воспалительные инфильтраты определяются вблизи лимба и вокруг шовного материала.

Уже на седьмые сутки отмечается покрытие раневой поверхности тонким эпителиальным слоем, состоящим из 2–3 слоёв эпителиальных клеток. При этом наблюдается частичное сохранение подвигающейся рассасыванию амниотической мембраны (рис. 2, 3).

Через 2 недели после трансплантации амниотической мембраны наблюдали умеренную гиперемию конъюнктивы у четырех кроликов (4 глаза) и отсутствие отделяемого во всех случаях. У восьми кроликов (8 глаз) мембрана была полностью сохранной на поверхности роговицы, у шести (6 глаз) — частично лизирована. Роговица эпителизирована во всех случаях. У четырех кроликов характерным было наличие умеренно выраженного отека в строме роговицы. В двух случаях наблюдали васкуляризацию (рис.4).

Спустя две недели после операции гистологически выявляется сохранение отёка стромы роговой оболочки, но у меньшего количества животных и в меньшей степени выраженности (рис. 5). Поверхность роговой оболочки полностью покрыта слоем эпителиальных клеток, состоящим из 5–6 слоёв эпителиоцитов, уже частично дифференцированных по слоям. Необходимо отметить, что подобная дифференциация отсутствует в местах расположе-

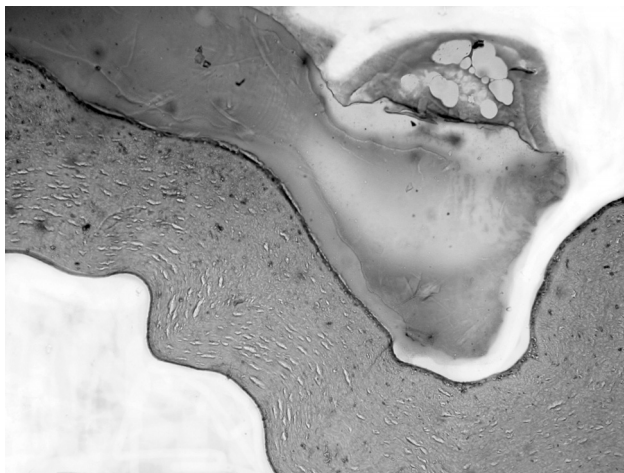


Рис. 3. Кролик № 5. Седьмые сутки после оперативного вмешательства. Роговая оболочка полностью покрыта истонченным эпителием, состоящим из 2–3 слоёв эпителиоцитов без дифференциации по слоям. К эпителиальной поверхности прилежит частично рассосавшаяся амниотическая оболочка (стрелка). Отсутствует отёк стромы роговой оболочки. Гематоксилин-эозин. X 40.

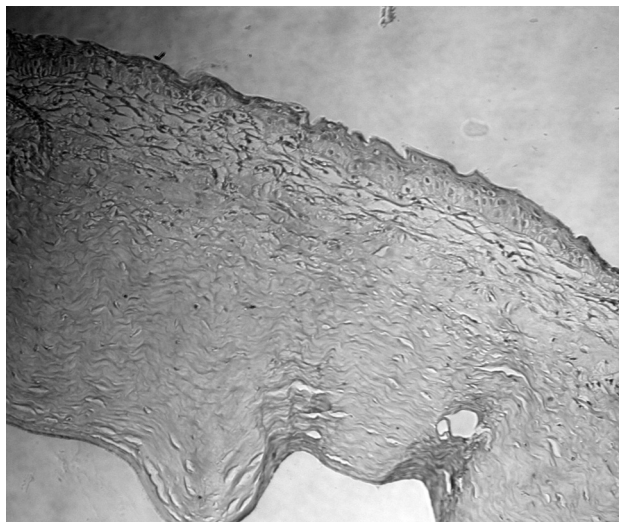


Рис. 5. Кролик № 2. Две недели после оперативного вмешательства. Полная эпителизация поверхности роговой оболочки с дифференциацией эпителиоцитов по слоям. Сохранился средней степени выраженности отёк передних слоёв стромы роговицы. Признаки воспаления отсутствуют. Ван-Гизон. X 140.



Рис. 4. Кролик № 6. Две недели после оперативного вмешательства. Конъюнктив бледно-розовая, отделяемое отсутствует. Амниотическая мембрана, частично лизирована. Поверхность роговицы эпителизирована, умеренно выраженный отек в передних слоях стромы.

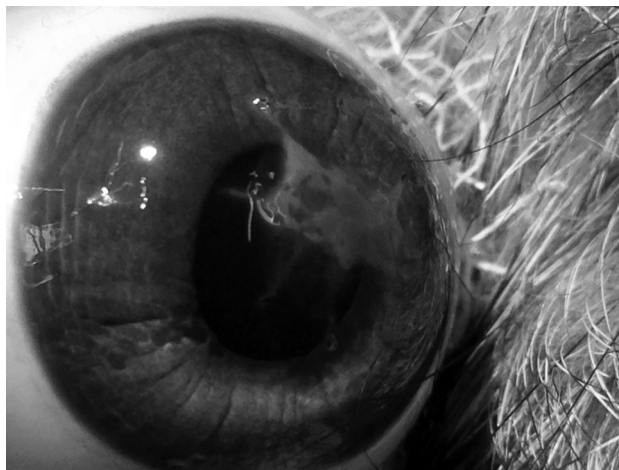


Рис. 6. Кролик № 7. Тридцатые сутки после операции. Конъюнктив бледно-розовая, отделяемое отсутствует. Амниотическая мембрана полностью лизирована. Неравномерное неинтенсивное помутнение роговицы, поверхность эпителизирована, отек в строме отсутствует.

ния шовного материала. В части случаев эпителизация в этих местах полностью отсутствует, а вокруг шовного материала образуется воспалительный инфильтрат, состоящий преимущественно из лимфоцитов.

Через 1 месяц после трансплантации амниотической мембраны у всех кроликов наблюдали розовую конъюнктиву и отсутствие отделяемого. У шести кроликов (6 глаз) мембрана оставалась сохранной на поверхности роговицы и у четырех (4 глаза) была частично лизирована. В двух случаях отек в строме роговицы отсутствовал, в двух — был

диффузным, в шести — слабо выраженным. У двух кроликов наблюдали точечную инфильтрацию. У четырех кроликов (4 глаза) характерным было наличие васкуляризации (рис. 6).

На тридцатые сутки после операции отмечалась полная эпителизация раневой поверхности, но при этом дифференциация по слоям отмечалась только в центральных участках роговой оболочки (рис. 7). Вблизи шовного материала эпителиальный слой был истончен, а эпителиоциты были дегенеративно изменены. В этих местах сохранялся отёк стромы роговой оболочки. Следует отметить, что дегене-

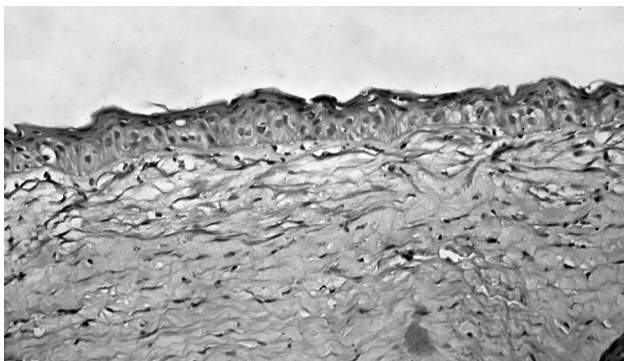


Рис. 7. Кролик № 1. Тридцатые сутки после операции. Эпителизация центральных участков поверхности роговой оболочки с дифференциацией клеток по слоям. Незначительный отёк части эпителиоцитов. Незначительный отёк передних слоёв стромы. Признаки воспаления отсутствуют. Гематоксилин-эозин. X 140.

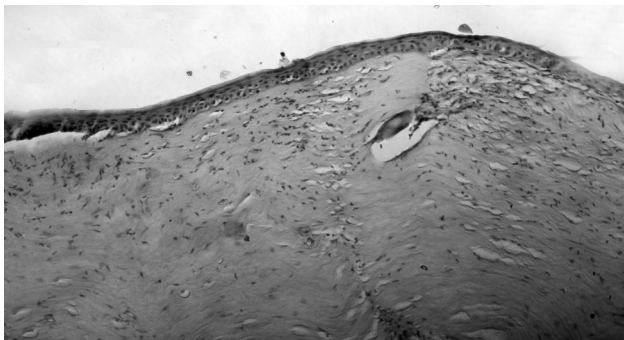


Рис. 8. Кролик № 4. Тридцатые сутки после операции. Эпителизация передней поверхности роговой оболочки, включая место расположения шовного материала. Отмечается отсутствие кератоцитов и гомогенизация коллагеновых волокон вдоль прохождения шовного материала (стрелка). Незначительная лимфоидная инфильтрация стромы. Гематоксилин-эозин. X 70.

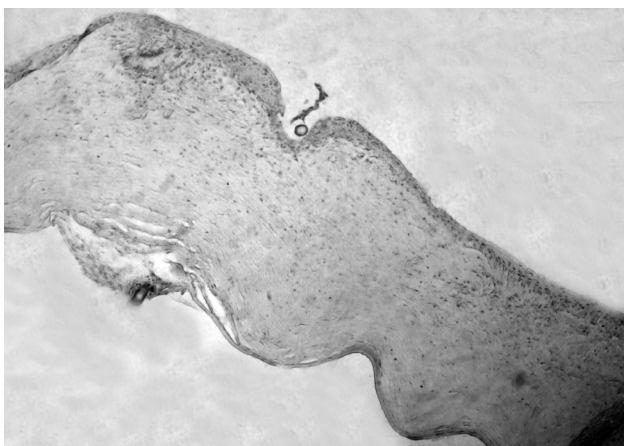


Рис. 9. Кролик № 8. Тридцатые сутки после операции. Передняя поверхность роговицы покрыта многослойным плоским эпителием дифференцированным по слоям, включая место расположения шовного материала. Реактивная пролиферация эндотелиальных клеток с образованием многослойной волокнистой ткани (стрелка). Ван-Гизон. X 70.

ративные изменения стромы отмечались на всем протяжении проходящего сквозь строму шовного материала (рис. 8). При этом в области внутренних слоёв стромы роговой оболочки вблизи шовного материала отмечалась реактивная пролиферация эндотелиальных клеток с образованием многослойной волокнистой ткани (рис. 9). В ряде случаев отмечались явления начальной васкуляризации стромы роговой оболочки, особенно в поверхностных слоях и вблизи шовного материала.

Спустя месяц после проведения оперативного вмешательства гистологически отмечается полная дифференциация эпителиальных клеток по слоям, хотя местами отмечается утолщение эпителия и незначительный его акантоз. Незначительное количество подобных клеток подверглось вакуольной дегенерации. Этот процесс сопровождается снижением интенсивности отёка стромы роговицы. В области лимба и шовного материала сохраняется отёк и воспалительная инфильтрация роговой оболочки. В некоторых случаях выражена васкуляризация поверхностных слоёв стромы роговицы и её фиброз (рис. 10, 11).

Заключение. При использовании послойной техники трансплантации амниотической мембраны с

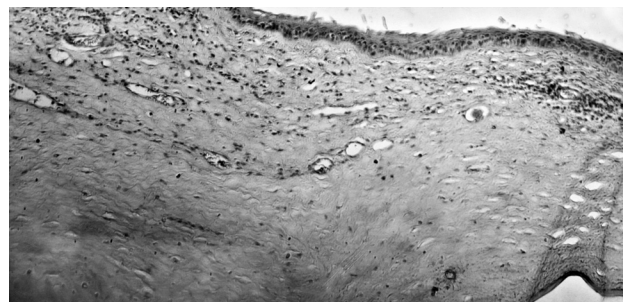


Рис. 10. Кролик № 12. Тридцатые сутки после операции. Васкуляризация поверхностных слоёв стромы роговицы (стрелка) с незначительными признаками остаточных воспалительных изменений. Гематоксилин-эозин. X 70.

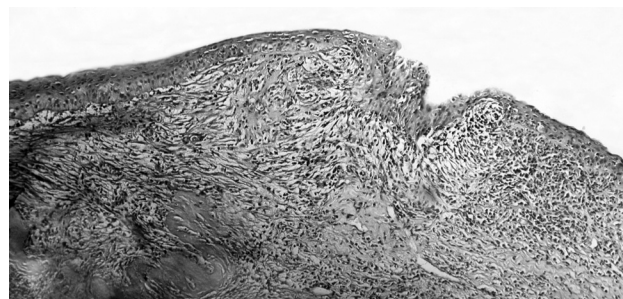


Рис. 11. Кролик № 15. Тридцатые сутки после операции. Выраженная фибробластическая реакция стромы роговой оболочки с остаточными явлениями воспаления и отёка в местах прохождения шовного материала. Ематоксилин-эозин. X 70.

ее фиксации узловатыми швами к поверхности роговицы наблюдалась более выраженная, по сравнению с техникой биологического покрытия, воспалительная реакция [1]. Об этом свидетельствует наличие на 30 сутки после послойной трансплантации умеренно выраженного отека стромы роговицы в центре у восемнадцати животных (60 %) и диффузного отека у шести животных (20 %). В шести случаях (20 %) характерным было наличие точечной инфильтрации в окружающей роговице.

Более выраженная воспалительная реакция в случае послойной трансплантации может быть обусловлена особенностями техники оперативного вмешательства (наложение узловатых швов на роговицу) и соответственно большей травматизацией роговой оболочки. В послеоперационном периоде нахождение швов на поверхности роговицы сопро-

вождается усиленной секрецией протеолитических ферментов и оказывает механическое раздражение, что способствует развитию воспалительной реакции с появлением васкуляризации к концу наблюдения у двенадцати животных (40 %). Вполне вероятно, меньшие размеры амниотической мембраны при использовании послойной техники, по сравнению с биологическим покрытием, обуславливают и менее выраженный противовоспалительный эффект.

Таким образом, при одинаковой глубине поражения роговой оболочки бактериальным инфекционным процессом предпочтение следует отдавать технике биологического покрытия как менее травматичному виду оперативного вмешательства, которое сопровождается меньшей интенсивностью воспалительной реакции со стороны ткани роговицы.

Литература

1. Влияние биологического покрытия роговицы жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраной на особенности течения моделированного бактериального кератита / Г. И. Дрожжина, Е. В. Середина, Т. Б. Гайдамака и [др.] // Офтальмол. журн. — 2015. — № 1. — С. 103–109.
2. **Драваджян З. Х.** Применение амниотической мембраны при перфорациях роговицы / З. Х. Драваджян, А. В. Амбариян, А. В. Овакиян // Сборник научных трудов. Российский общенациональный офтальмологический форум. — Т. 2. — М., 2009. — С. 280–284.
3. **Новицкий И. Я.** Место трансплантации амниотической оболочки в лечении заболеваний роговицы, сопровождающихся неоваскуляризацией / И. Я. Новицкий // Вестник офтальмол. — 2003. — № 6. — С. 9–11.
4. **Новицкий И. Я.** Трансплантация амниотической оболочки с фиксацией в слоях роговицы / И. Я. Новицкий, М. Н. Сарахман, Т. М. Смаль // Офтальмохирургия. — 2003. — № 3. — С. 4–7.
5. Патент Украины № 49759 «Спосіб здійснення роботи низькотемпературного банку біологічних об'єктів», опубл. Бюл. № 11. 15.11.2004. Г. С. Лобынцева и соавт.
6. Патент Украины № 87119 «Спосіб моделювання бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості». опубл. Бюл № 2. 27.01.2014. Г. И. Дрожжина, Е. В. Вансович, Т. Б. Гайдамака.
7. **Степанов В. К.** Применение амниотической оболочки в качестве защитного биопокровителя пораженной роговицы и роговичного трансплантата при кератопластике / В. К. Степанов, О. В. Иванов // Тез. докладов Девятого съезда офтальмологов России. — М., 2010. — С. 319.
8. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocelles, and deep ulcers / A. Solomon, D. Meller, P. Prabhasawat et [all] // Ophthalmology. — 2002. — V. 109. — № 4. — P.694–703.
9. Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders / O. Gris, Z. Del Campo, C. Wolley-Dod et [all] // Cornea. — 2002. — V.21. — P. 22–27.
10. Amniotic membrane transplantation in refractory neurotrophic corneal ulcers: a randomized, controlled clinical trial / S. Khokhar, T. Natung, P. Sony et [all] // Cornea. — 2005. — V.24. — P. 654–660.
11. Amniotic membrane transplantation in severe bacterial keratitis / J. J. Gicquel, R. A. Bejjani, P. Elies et [all] // Cornea. — 2007. — V.26. — P.27–33.
12. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro / N. Kjaergaard, M. Hein, L. Hyttel et [all] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. — 2001. — V.94. — P.224–229.
13. Antibacterial properties of human amniotic membranes / W. P. Talmi, L. Sigler, E. Inge et [all] // Placenta. — 1991. — V.12. — P.285–288.
14. **Azuara-Blanco A.** Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction / A. Azuara-Blanco, C. T. Pillai, H. S. Dua // Br J Ophthalmol. — 1999. — Vol.35. — P. 399–402
15. Effect of Amniotic Membrane Transplantation on the Healing of Bacterial Keratitis / Irina S. Barequet, Zohar Habot-Wilner, Nathan Keller et [all] // IOVS. — 2007. — V.23. — P. 124–130.
16. Histopathology and ultrastructure of human corneas after amniotic membrane transplantation / B. Seitz, M. D. Resch, U. Schlotzer-Schrehardt et [all] // Arch. Ophthalmol. — 2006. — V. 124. — P. 1487–1490.
17. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane / Y. Hao, D. H. Ma, D. G. Hwang et [all] // Cornea. — 2000. — V.19. — P. 348–352.
18. **Kim J. S.** Amniotic membrane transplantation in infectious corneal ulcer / J. S. Kim, J. C. Kim, T. W. Hahn, W. C. Park // Cornea. — 2001. — V. 20. — P. 720–726.
19. **Prabhasawat P.** Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation / P. Prabhasawat, N. Tesavibul, W. Komolsuradej // Br. J. Ophthalmol. — 2001. — V.85. — P.1455–1463.
20. **Seitz B.** Amniotic membrane transplantation. An indispensable therapy option for persistent corneal epithelial defects / B. Seitz // Ophthalmologie. — 2007. — V.104. — P.1075–1079.

21. **Sippel K. C.** Amniotic membrane surgery / K. C. Sippel, J. J. Ma, C. S. Foster // *Curr. Opin. Ophthalmol.* — 2001. — V.12. — P. 269–281.
22. **Thatte S.** Amniotic membrane transplantation: An option for ocular surface disorders / S. Thatte // *Oman. J. Ophthalmol.* — 2011. — V.4. — № 2. — P.67–72.
23. **Tseng S. C.** Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix / S. C. Tseng, D. Q. Li, X. Ma // *J. Cell Physiol.* — 1999. — V.179. — P.325–335.

Поступила 14.04.2015